Aus der genetischen Abteilung des Kaiser-Wilhelm-Instituts in Berlin-Buch

Über den Mechanismus strahleninduzierter Chromosomenmutationen bei Drosophila melanogaster

---

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades genehmigt von der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

Vorgelegt von

Karl Eberhardt

aus Ziegelleiten

Tag der mündlichen Prüfung: 6. 9. 1939

Tag der Promotion: 19.1.1940

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz A.G., Würzburg

N 98

Referenten: N. W. Timoféeff-Ressovsky

Prof. Dr. Kühn

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus
„Chromosoma" Abt. B der Zeitschrift für Zellforschung
und mikroskopische Anatomie, 1. Band, 3. Heft
(Verlag von Julius Springer, Berlin W 9)

Inhaltsverzeichnis.

Seite

1. Einleitung 317
2. Material und Methodik 319
3. Versuchsergebnisse 323
   a) Mutationsrate und Strahlendosis 323
   b) Mutationsrate und Wellenlänge der Strahlen 325
   c) Mutationsrate und Zeitfaktor 327
4. Diskussion 329

Zusammenfassung 334

Literaturverzeichnis 334

1. Einleitung.

Die Mutationsforschung hat sich in den letzten 10—15 Jahren zu einem rasch aufstrebenden Teil der Genetik entwickelt, da die Entdeckung, Mutationen durch Röntgenstrahlen zu erzeugen, Anlaß zu zahlreichen Versuchen gab. Die Untersuchungen sollten vor allem Licht auf den Entstehungsmechanismus einer Genmutation werfen; die strahleninduzierte Erzeugung von Chromosomenaberrationen aber, speziell eine quantitative Auswertung der Ergebnisse, trat bis vor wenigen Jahren noch stark in den Hintergrund. In der vorliegenden Arbeit soll versucht werden, den Entstehungsmechanismus einer Chromosomenmutation zu klären. Dabei ist die Erforschung des Primärereignisses, das allein, oder erst über sekundäre Vorgänge, einen Chromosomenbruch bewirken kann, von besonderer Bedeutung. Neben biophysikalischen Betrachtungen werden sich noch solche cytologischer Natur ergeben, denn viele Chromosomenmutationen stellen komplizierte Umordnungen innerhalb des Kerns dar.

Eine Mutation kann die Änderung eines einzelnen Gens (Genmutation), einen strukturellen Umbau innerhalb eines oder mehrerer Chromosomen (Chromosomenmutation) oder eine Abweichung von der normalen Artzahl der Chromosomen darstellen. Diese drei Mutationstypen können alle spontan auftreten und bilden somit die Basis für die genotypische Variation und die Differenzierung neuer Rassen und Arten.

Begrifflich ergibt sich wohl eine klare Trennung in drei Gruppen; tatsächlich aber läßt sich einstweilen nur zwischen den Gen- und Chromosomenmutationen einerseits und den Genommutationen andererseits ein voll gültiger Unterschied feststellen, nicht aber zwischen den ersten beiden. Es konnte nämlich gezeigt werden, daß sich erstens kleine chromosomale Umlagerungen wie neue mendelnde Gene verhalten und daß zweitens die Lage der Gene für deren Manifestierung von großem Einfluß sein kann. Die Vermutung, daß alle Genmutationen kleine bis kleinste chromosomale Umlagerungen sind, scheint jedoch vor weiteren exakten cytogenetischen Versuchen als zu weit gefaßt.

Auslösungsversuche von Genmutationen haben ergeben, daß die niedrige spontane Mutationsrate durch Röntgen- oder Radiumbestrahlung stark erhöht werden kann. Die exakte quantitative Auswertung der Versuchsergebnisse ergab, daß sich die Mutationsrate direkt proportional zur Strahlendosis verhält, ferner, daß sie wellenlängen- und zeitfaktorunabhängig ist. Die direkte Proportionalität der Mutationsrate zur Strahlendosis zeigt nach der Treffertheorie der biologischen Wirkungen kurzwelliger Strahlung, daß zum Mutieren eines Gens ein Treffer hinreicht. Die Art dieses Treffers kann aber nur in einer Ionisation oder Atomanregung bestehen, da die Höhe der Mutationsrate nur von der Anzahl der gebildeten Ionenpaare abhängt und die Absorption eines Strahlenquants oder der Durchgang eines Sekundärelektrons als Treffereignis hiermit ausscheidet (Timoféeff-Ressovsky 1939, hier die weitere Literatur). Die oft beobachtete Gleichartigkeit von Hin- und Rückmutation legt die Annahme nahe, daß die Auslösung einer Mutation in einem Elementarprozeß besteht und daß nicht erst weitere sekundäre chemische Umsetzungen durch diesen angeregt werden müssen, denn eine einfache Umkehrbarkeit wäre beim Auftreten von sekundären Reaktionen kaum denkbar. — Diese weit ausgearbeiteten Ergebnisse über den Entstehungsmechanismus strahleninduzierter Genmutationen werden für die Auswertung unserer Versuche als Vergleichsmaterial von großer Bedeutung sein, doch spielen neben dem Problem des Primärereignisses noch andere Umstände mit, welche die Verhältnisse erheblich komplizierter gestalten.

Folgende Faktoren müssen neben der Beurteilung des primären Auslösungsvorganges mit in Betracht gezogen werden: 1. An jeder genetisch erfaßten Chromosomenmutation sind zwei Primärereignisse beteiligt, denn nur die sich aus zwei Brüchen ergebenden Umlagerungen sind lebensfähig. 2. Die räumliche Lagerung der Chromosomen ist für die Neugruppierung von beträchtlicher Bedeutung, denn es darf wohl kaum eine vollkommene Bewegungsfreiheit der Chromosomen oder deren Fragmente und somit eine ganz freie Kombinationsmöglichkeit vermutet werden. 3. Viele Chromosomenmutationen wirken für die Zelle entweder unmittelbar letal oder die betroffenen Zellen werden bei den folgenden Teilungen eliminiert.

Besonders die Punkte 2 und 3 gestalten die Verhältnisse ungünstig, da sie in keinerlei Weise in irgendwelchen mathematischen Größen oder Formeln ausgedrückt werden können. Die Schwierigkeit des Punktes 1 allein läßt sich hingegen durch rein mathematische Überlegungen beseitigen.

Neben der Klärung des Elementareffektes ist die Frage nach der räumlichen Beziehung zwischen den an der Umlagerung beteiligten Chromosomenabschnitten von Bedeutung. Sie wird von zwei Hypothesen erörtert: 1. SEREBROVSKY: Kontakthypothese (Crossing-over-Hypothese) nimmt ein Aneinanderheften zweier nichthomologer Chromosome, einen Doppelbruch an der Berührungsstelle und wechselseitige Wiedervereinigung der Bruchstücke an. 2. Nach STADLERS Bruchhypothese treten primär freie Bruchstücke auf, die sich sekundär zufallsmäßig neu kombinieren.

Nach den bisherigen Untersuchungen scheint sich STADLERS Bruchhypothese als richtig zu erweisen. Ihre stärkste Stütze besteht wohl im cytologischen Nachweis von freien Bruchstücken, die neben reziproken Verlagerungen auftreten (SAX, BAUER).

Die Fragmente haben aber anscheinend nicht freie Kombinationsmöglichkeit, denn es müßten sich im Falle einer solchen oft Rekombinationen von mehreren Bruchstücken ergeben. Tatsächlich aber kombinieren sich bei mehreren Brüchen die Fragmente meistens paarweise und die Rekombinationen mit mehreren Bruchstücken treten zahlenmäßig weit hinter der bei Unabhängigkeit zu erwartenden Häufigkeit zurück (BAUER, DEMEREC und KAUFMANN 1938).

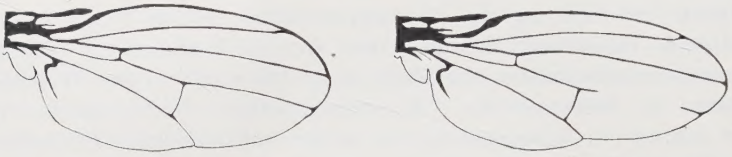
Die im folgenden dargestellten Versuche sind von der Frage bestimmt, ob der Mechanismus bei der Auslösung einer Chromosomenmutation ähnlich oder gleich dem bei der Entstehung einer Genmutation ist. Die Lösung dieses Problems kann nur mit einer entsprechend gewählten Analysierungsmethode erreicht werden, welche die aufgezeigten Schwierigkeiten möglichst beseitigt.

2. Material und Methodik.

Die zuerst angewandten Methoden, Translokationen auf genetischem Wege festzustellen, bestanden im Nachweis geänderter Koppelungsverhältnisse. Prinzipiell wird in der Weise vorgegangen, daß bestrahlte Männchen mit Weibchen gekreuzt werden, die in jedem Chromosom homozygot ein leicht erkennbares, sog. Markierungsgen besitzen. Die F_1-Tiere werden mit letzteren rückgekreuzt und aus den nun auftretenden Koppelungsverhältnissen der eingeführten Gene kann auf entsprechende Translokationen geschlossen werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Methode benutzt, die auf der Erscheinung der Lagewirkung der Gene (Positionseffekt) beruht (KHVOSTOVA und GAVRILOVA 1935). Im IV. Chromosom von *Drosophila*

melanogaster liegt das Gen *„cubitus interruptus" (ci)*, dessen rezessives Allel eine Unterbrechung einer Flügelader bewirkt (Abb. 1). Wenn bei heterozygoten Tieren in der Nähe des normalen Allels ein Chromosomenbruch mit nachträglicher Anheftung anderen Chromosomenmaterials



A B

Abb. 1A und B. A Normaler Flügel von *Drosophila melanogaster*. B Flügel mit dem Merkmal cubitus interruptus (*ci*).

stattgefunden hat, so wird durch diese Umlagerung die Dominanz des normalen Allels soweit geschwächt, daß sich dann das sonst rezessive

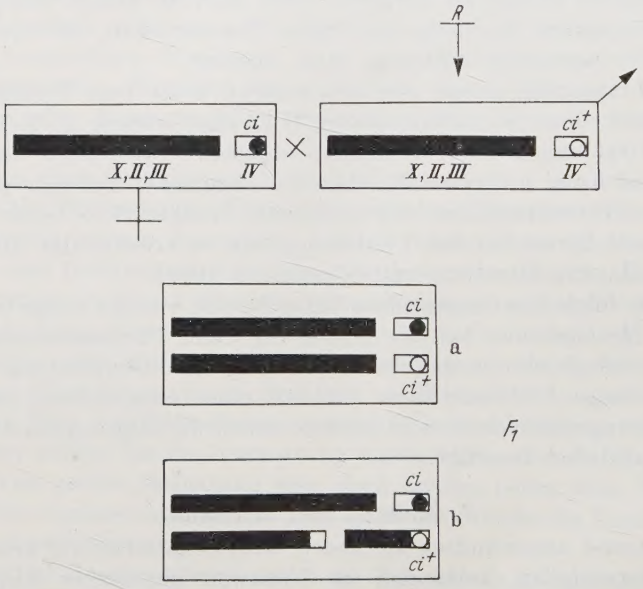


Abb. 2. Kreuzungsschema zur Feststellung der Translokationen zwischen dem IV. und einem der anderen drei Chromosomen mittels des Positionseffektes. a heterozygot für *ci*, phänotypisch normal, b Beispiel eines Translokationsindividuums, heterozygot für *ci*, aber phänotypisch *ci*.

Allel manifestieren kann. Die nun auftretende Flügeladerunterbrechung ist oft nur ganz schwach ausgeprägt, aber immer klar zu erkennen. Es werden also normale Männchen bestrahlt und diese mit homozygoten *ci*-Weibchen[1] gekreuzt (Abb. 2); in der F_1-Generation erscheinen neben

[1] Unsere Weibchen waren außerdem homozygot für *ey*, was jedoch für den Positionseffekt belanglos ist.

den phänotypisch normalen Individuen (a) auch einzelne Tiere mit Flügeladerunterbrechungen, die dann auf eine Umlagerung im IV. Chromosom hinweisen (b). Für die Manifestierung des Gens *ci* ist von Wichtigkeit, daß der Bruch in der Nähe des normalen Allels, am proximalen Chromosomenende stattgefunden hat und daß das angeheftete Material nicht aus einer inerten, sondern genisch aktiven Region eines anderen Chromosoms stammt (Dubinin, Sokolov, Tiniakov 1935).

Dubinin und Sidorov (1934) haben auf exakte Weise gezeigt, daß die beschriebene Erscheinung tatsächlich nur auf die Lagewirkung zurückzuführen ist und daß nicht etwa eine Mutation des normalen Allels zum rezessiven stattgefunden hat. Individuen, die homozygot für die Translokation waren, erwiesen sich als vollkommen normal, ebenso Haplo-IV-Tiere, deren einziges IV. Chromosom eine Translokation eingegangen war.

Aus der F_1-Generation der ersten Bestrahlungsversuche wurden alle und aus den folgenden einzelne *ci*-Tiere zur Analyse mit Hilfe der Koppelungsmethode herangezogen. Die *ci*-Ausnahmemännchen wurden mit Weibchen folgenden Genotyps gekreuzt: $\widehat{yy}$, *bw/bw*, *e/e*, *ey/ey*. Die F_1-Männchen mit normalen Augen wurden dann mit Weibchen vorigen Genotyps rückgekreuzt. Die F_2-Individuen hatten je nach der Art der Translokation folgenden Phänotyp:

Translokation 1—4: Männchen nicht *eyeless*, Weibchen *eyeless*;
Translokation 2—4: alle Tiere entweder nicht *brown*, nicht *eyeless* oder *brown* und *eyeless*;
Translokation 3—4: alle Tiere entweder nicht *ebony*, *nicht eyeless* oder *ebony* und *eyeless*.

In Tabelle 1 ist die zahlenmäßige Auswertung einiger Translokationen gezeigt. Nach der genetischen Überprüfung folgte mit Hilfe der Speicheldrüsenchromosomenmethode die cytologische Untersuchung an Stichproben.

Tabelle 1. Genetische Analyse einiger Translokationen, die den Positionseffekt am Locus *ci* zeigen.

ci-Ausnahmsmännchen wurden mit $\widehat{yy}$; *bw/bw*; *e/e*; *ey/ey*-Weibchen gekreuzt und Männchen der F_1 mit Weibchen vorigen Genotyps rückgekreuzt (6 Beispiele).

Phänotyp der F_2-Tiere	Zahlenmäßiges Auftreten der F_2-Tiere, je nach Art der Translokation						
	T_{1-4}		T_{2-4}	T_{3-4}	T_{3-4}	T_{3-4}	T_{3-4}
	♀	♂					
bw, *e*, *ey*	52	—	48	62	76	29	120
bw, *e*, +	—	73	—	—	—	—	—
bw, +, *ey*	55	—	45	—	—	—	—
bw, +, +	—	60	—	97	104	79	140
+, *e*, *ey*	48	—	—	75	76	36	93
+, *e*, +	—	51	80	—	—	—	—
+, +, *ey*	51	—	—	—	—	—	—
+, +, +	—	63	76	84	115	57	99

Die Positionseffektmethode weist einen großen Vorteil den anderen Feststellungsmöglichkeiten gegenüber auf, denn es wird mit ihr nur eine ganz bestimmte, relativ scharf abgegrenzte Region des gesamten Chromosomenmaterials untersucht. Bei der Anwendung der Koppelungsmethode werden alle jene Translokationen erfaßt, die überhaupt zwischen den betreffenden Chromosomen stattfinden; in unserem Falle aber wird immer nur ein bestimmter Bruch im IV. Chromosom registriert und der zweite Bruch, der an beliebiger Stelle in einem anderen Chromosom stattfinden kann, hat hierbei für die Höhe der Mutationsrate keine oder nur wenig Bedeutung. Die Erklärung ist durch folgende Überlegung gegeben: Durch Bestrahlung entstehen zweifellos sehr viele Chromosomenbrüche, die Mehrzahl hiervon findet im X-Chromosom und in den großen Autosomen statt und nur ein ganz geringer Prozentsatz wird in der Nähe des Locus *ci* liegen. Beim Entstehen von reziproken Positionseffekt-Translokationen kombineren sich somit Brüche mit einer sehr geringen Wahrscheinlichkeit mit solchen sehr großer Wahrscheinlichkeit (Bauer 1939; Bauer, Demerec und Kaufmann 1938). Wenn sich zwei voneinander unabhängige Primärereignisse, in diesem Falle Brüche, zu einem Sekundärereignis vereinigen, so ergibt sich die Häufigkeit des Sekundärereignisses (*ci*-Translokation) aus dem Produkt der beiden Wahrscheinlichkeiten der Primärereignisse. Ist aber, wie in unserem Falle, die Wahrscheinlichkeit des einen sehr groß, also nahe 1 bei allen in Frage kommenden Dosen, so ist die Häufigkeit der *ci*-Translokation allein durch die Wahrscheinlichkeit des zweiten, weniger häufigen Primärereignisses (Bruch am Locus *ci*) bestimmt. Die mit unserer Methode gefundenen Mutationsraten gestatten also unmittelbare Schlußfolgerungen in bezug auf das Primärereignis, das *einen* Chromosomenbruch auslöst. Die so gefundenen Werte lassen eine einfachere Beurteilung zu als jene, bei denen man auf Grund einer anderen Analysierungsmethode (Koppelungsmethode) die eine von den beiden Bruchwahrscheinlichkeiten nicht einfach außer acht lassen darf.

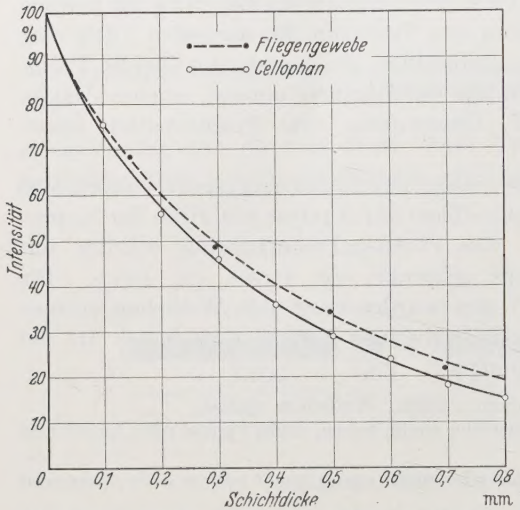


Abb. 3. Absorption der Grenzstrahlen in Cellophan und Fliegengewebe.

Die Röntgenbestrahlungsversuche wurden mit zwei verschiedenen Strahlenqualitäten durchgeführt: mittelharten Röntgenstrahlen (Halbwertschicht 1,35mm

Cu) und ganz weichen Röntgenstrahlen, sog. Grenzstrahlen (HWS 0,25 mm Cellophan).

Die Grenzstrahlen werden stark auch in dünnen Gewebeschichten absorbiert. Deshalb mußten Absorptionsversuche in Gewebe und Cellophan durchgeführt werden, deren Ergebnisse graphisch in den Abb. 3 und 4 dargestellt sind. Aus den Absorptionskurven der Abb. 3 kann die Tiefendosis berechnet werden, die in die Gonaden der bestrahlten Fliegen eindringt (Näheres darüber wird bei der Beschreibung der entsprechenden Versuche angegeben). Die Abb. 4 zeigt, daß sich beim Auftragen der Absorptionskurve auf ein logarithmisches Raster eine Gerade ergibt;

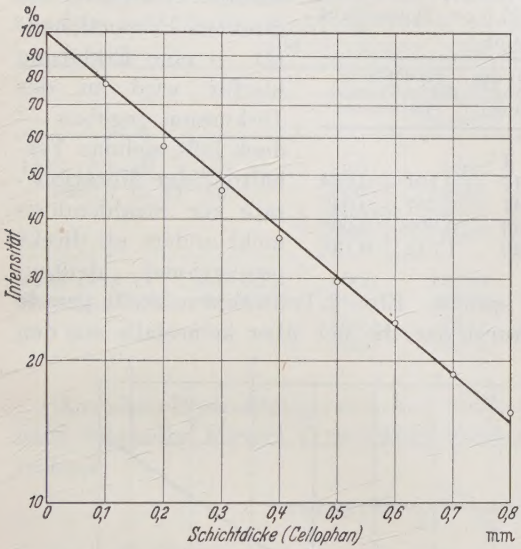


Abb. 4.

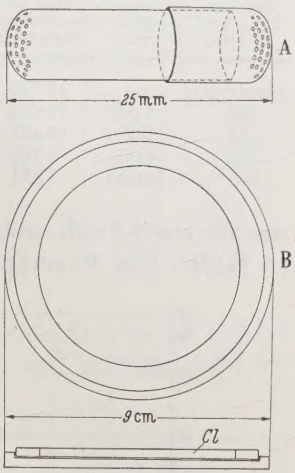


Abb. 5A und B.

Abb. 4. Logarithmische Darstellung der Absorptionskurve der Abb. 3.

Abb. 5A und B. Bestrahlungskapseln. A für mittelharte und harte Röntgenstrahlen, B für ganz weiche Röntgenstrahlen (Grenzstrahlen) in der Aufsicht und im Querschnitt. *Cl* 0,02 mm dicke Cellophanschicht.

daraus muß auf genügende Homogenität der benutzten Strahlung geschlossen werden. Um überflüssige Absorption der Grenzstrahlen zu vermeiden, wurden die Fliegen in flachen Holzbehältern, deren Deckel mit 0,02 mm dickem Cellophan bespannt war, bestrahlt (Abb. 5). Bei Bestrahlungen mit harter Röntgenstrahlung wurden große, durchlöcherte, medizinische Gelatinekapseln benutzt (Abb. 5). Um unkontrollierbare Streustrahlung zu vermeiden, wurden die Bestrahlungen in 1 m freiem Luftraum durchgeführt.

Alle Dosen wurden in r-Einheiten mittels eines sorgfältig geeichten Ionognom-Dosimeters gemessen, dessen Ionisationskammer auch für die Messung von Grenzstrahldosen in r-Einheiten geeignet ist. Die äquivalente Dosierung harter und weicher Strahlen wurde von Herrn Dr. K. G. Zimmer kontrolliert, wofür ich ihm auch hier bestens danken möchte.

3. Versuchsergebnisse.

a) Mutationsrate und Strahlendosis.

In Tabelle 2 sind die Versuchsergebnisse zahlreicher einzelner Bestrahlungen zur Auslösung von Translokationen zusammengestellt, die

durch harte Röntgenstrahlen erzeugt und durch den *ci*-Positionseffekt erfaßt wurden. Wie sich aus Abb. 6 ersehen läßt, ergab sich eine direkte Proportionalität zwischen Mutationsrate und Bestrahlungsdosis. Einzelne Werte fallen mit ihren Fehlergrenzen stärker außerhalb der direkten Proportionalität — eine Erklärung hierfür wird in der Diskussion gegeben — doch läßt sich das Verhältnis der Mutationsrate zur Strahlendosis nicht anders als direkt proportional deuten, was für ein 1-Treffereignis spricht. Eine 2-Trefferkurve stellt gerade zu Beginn eine Exponentialkurve dar, die sich aber keinesfalls aus den gefundenen Werten ergeben kann, da dann die Mutationsrate im Quadrat zur Strahlendosis ansteigen müßte.

Tabelle 2. Proportionalität der Raten von *ci*-Translokationen zu den Röntgenbestrahlungsdosen.

Es wurden normale Männchen bestrahlt und mit *ci*/*ci*-Weibchen gekreuzt. Bestrahlungsbedingungen: 180 kV (eff), 5 mA, 1 mm Cu-Filter, HWS = 1,35 mm Cu, Abstand Fokus-Kapselmitte 17,5 cm, Dosiszulauf in 17,5 cm : 69 r/min.

Bestrahlungszeit in Min.	Röntgendosis in r	Zahl der geprüften Gameten	Zahl der ci-Individuen	Prozentsatz der *ci*-Translokationen
Kontrolle	—	15332	1[1]	
22	1500	16884	17	0,101 ± 0,024
44	3000	15923	41	0,257 ± 0,040
87	6000	9222	83	0,900 ± 0,098
145	10000	7934	120	1,512 ± 0,136

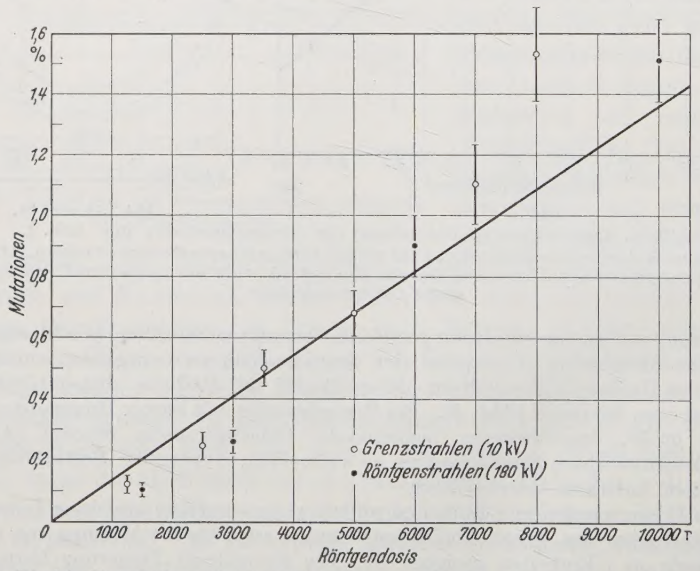


Abb. 6. Direkte Proportionalität der Raten von *ci*-Translokationen zu den Röntgenstrahlungsdosen und Vergleich der mutationsauslösenden Wirkung von Grenzstrahlen und mittelharten Röntgenstrahlen bei *Drosophila melanogaster*.

[1] Unter dem Kontrollmaterial trat nur ein Männchen mit dem Merkmal *ci* auf. Dieses Individuum konnte aber nicht weiter untersucht werden, da es sich als steril erwies.

Khvostova und Gavrilova (1935 und 1938) haben bereits ähnliche Dosisversuche durchgeführt (Tabelle 3). Die von diesen Autoren gefundenen Werte bei 6000 r sind wesentlich niedriger als die in dieser Arbeit festgestellten. Erst bei der Durchführung der Zeitfaktorversuche ergab sich der Grund hierfür. Es wird im Abschnitt über Mutationsrate und Zeitfaktor näher darauf eingegangen werden.

Tabelle 3. Proportionalität der Raten von *ci*-Translokationen zu den Röntgenbestrahlungsdosen nach Versuchen von Khvostova und Gavrilova (1935 und 1938).

	Dosis in r	Zahl der geprüften Gameten	Zahl der *ci*-Individuen	Prozentsatz der *ci*-Translokationen
1935 (180 kV, 1 mm Al., 6000 r in 24 Min.)	1000	9042	12	0,1327 ± 0,0121
	2000	12608	30	0,2379 ± 0,0430
	4000	14137	72	0,5093 ± 0,0191
	6000	8973	63	0,7021 ± 0,0774
1938 (180 kV, 1 mm Al., 6000 r in 33 Min. 36 Sek.)	1000	13680	10	0,070 ± 0,02
	2000	15388	22	0,143 ± 0,03
	4000	9511	34	0,357 ± 0,06
	6000	5875	32	0,544 ± 0,09

Aus allen Bestrahlungsversuchen wurde die Mutationsrate für 10000 r nach folgender Formel (Timoféeff-Ressovsky und Zimmer 1939) berechnet:

$$\alpha_{10\,000\ r} = \frac{\Sigma\, n_i}{\Sigma\, D_i \cdot N_i} \cdot 10\,000$$

in der n_i die Zahl der aufgetretenen Mutationen, D_i die Werte der Röntgendosen und N_i die Zahl der untersuchten Individuen darstellt. Der so gefundene Punkt bestimmt die Neigung der Geraden.

b) Mutationsrate und Wellenlänge der Strahlen.

Versuche mit Strahlen verschiedener Wellenlänge können über das Wesen des Treffers und, unter bestimmten Bedingungen, auch über die relative Größe des Treffbereichs Aufschluß geben.

Um einen möglichst großen Wellenlängenunterschied im Vergleich zu den vorigen Versuchen zur Verfügung zu haben, wurden Grenzstrahlen, besonders weiche Röntgenstrahlen, benutzt, die bei einer Röhrenspannung von 10 kV entstehen.

Im Gegensatz zu den harten Röntgenstrahlen werden weiche Strahlen auch vom Gewebe stark absorbiert. Es mußte daher die die Spermien tatsächlich treffende Strahlenmenge bestimmt werden. Nach Messungen von Strasburger ist der Abstand der Hodenmitte von der Rückseite der Fliegen im Mittel 500 μ und von der Bauchseite etwa 150 μ. Die Fliegen, die in flachen Kapseln (Abb. 5) bestrahlt wurden, laufen darin zu 50—55% mit der Bauchseite nach oben und zu 45—50% mit der

Bauchseite nach unten herum. Aus diesen Zahlen und aus der Tiefenlagebestimmung der Hoden ließ sich die mittlere Tiefe der Gonaden während der Bestrahlung berechnen; sie beträgt etwa 300 μ. Schließlich mußte noch die Absorption der Grenzstrahlen im Fliegengewebe gemessen werden. Die verschieden dicken Schichten des Fliegenbreies ergaben eine ähnliche Absorptionskurve, wie die des Cellophans (Abb. 3). Aus der Kurve kann abgelesen werden, daß nur etwa die Hälfte der Strahlenmenge die Hoden trifft.

Für den Vergleich der Wirkung der Grenzstrahlen mit der der Röntgenstrahlen wurden abermals Versuche mit verschieden großen Dosen durchgeführt. Das Ergebnis zahlreicher Bestrahlungen ist in Tabelle 4 zusammengestellt und mit in Abb. 6 aufgenommen.

Tabelle 4. Proportionalität der Raten von *ci*-Translokationen zu den Dosen sehr weicher Röntgenstrahlen (Grenzstrahlen).

Es wurden normale Männchen bestrahlt und mit *ci*/*ci*-Weibchen gekreuzt. Bestrahlungsbedingungen: 10 kV; 10 mA; HWS = 0,25 mm Cellophan; Abstand Meßblende—Kapselmitte: 6 cm; Dosiszulauf in 6 cm 218 r/min. auf Oberfläche.

Bestrahlungszeit in Min.	Dosis in r		Zahl der geprüften Gameten	Zahl der *ci*-Individuen	Prozentsatz der *ci*-Translokationen
	Oberfläche	Tiefe			
11,5	2500	1250	14282	17	0,118 ± 0,029
23	5000	2500	13521	33	0,244 ± 0,043
32	7000	3500	12176	61	0,501 ± 0,061
46	10000	5000	12249	83	0,680 ± 0,074
64	14000	7000	6140	67	1,091 ± 0,133
74	16000	8000	6680	102	1,527 ± 0,150

Aus den festgestellten Mutationsraten, die sich bei harter und weicher Röntgenstrahlung ergeben, ist eine klare Wellenlängenunabhängigkeit ersichtlich. Dieses Ergebnis besagt, daß die Rate der ausgelösten Brüche nur von der Zahl der Ionisationen abhängt. Würde man nämlich andererseits die Absorption eines Strahlenquants als Treffer annehmen, so müßten bei harter Strahlung weniger Mutationen auftreten, da zur Erzeugung einer bestimmten Anzahl von Ionenpaaren (also pro gleiche Dosis) weniger Quanten harter Strahlung notwendig sind als solche weicher Strahlen. Nimmt man hingegen den Durchgang eines Sekundärelektrons durch einen empfindlichen Bereich als Treffer an, so müßte sich ebenfalls eine Wellenlängenabhängigkeit zeigen. Es kann sich dabei um folgende zwei Fälle handeln: 1. Falls die zur Erreichung des Effektes erforderliche Energie gering ist, so muß das Bestrahlungsergebnis bei härterer Strahlung, aber gleicher Dosis größer sein und die Proportionalitätskurve muß steiler ansteigen; dieses würde eintreten, da bei weicher Strahlung, wegen der zu großen Dichte der Ionisationen längs der Bahn des Sekundärelektrons, beim Durchgang des letzteren durch den Treffbereich zuviele Ionisationen hinterlassen würden, von denen die meisten

überflüssig wären, wodurch sich ein „Sättigungseffekt" ergeben müßte. 2. Falls die zur Erreichung des Effektes erforderliche Energie größer sein muß, so wird bei harter Strahlung die Ionisationsdichte längs der Sekundärelektronenbahn zu gering sein, um im empfindlichen Bereich genügend Energie zu hinterlassen; es wird also bei härterer Strahlung die Trefferzahl steigen müssen und die Form der Schädigungskurve muß sich mit der Wellenlänge ändern. Da auch diese beiden Schlußfolgerungen nicht zutreffen, zumal eine absolute Wellenlängenunabhängigkeit festgestellt wurde, muß angenommen werden, daß die Anzahl der Mutationen tatsächlich nur von der Zahl der erzeugten Ionisationen abhängt; somit kann die Folgerung des vorigen Abschnittes — ein Chromosomenbruch wird durch *einen* Treffer erzeugt — dahingehend erweitert werden, daß ein Treffer als eine *Ionisation* anzusehen ist.

c) Mutationsrate und Zeitfaktor.

Zur Untersuchung des Entstehungsvorganges bei Chromosomenmutationen ist es von größter Wichtigkeit festzustellen, ob gleiche applizierte Dosen bei verschieden großer zeitlicher Verteilung denselben Effekt bewirken.

Diese Frage der Intensitätsabhängigkeit wurde bereits bei den verschiedensten biologischen Objekten gelöst, wobei einerseits eine Intensitätsunabhängigkeit, andererseits aber mit Verdünnung der Strahlung ein verminderter Effekt beobachtet werden konnte. Für letzteren Fall kann das Ausmaß, in dem die unvollständige Kumulation verdünnter bzw. fraktionierter Dosen sich geltend macht, durch einen Zahlenwert angegeben werden, der Zeitfaktor genannt wird und als die Zahl bezeichnet wird, mit der man die Dosis multiplizieren muß, um bei einer bestimmten Größe der Intensitätsänderung die gleiche Dosiswirkung zu erzielen. Ein Zeitfaktor, der also größer als 1 ist, bedeutet, daß die Dosenkumulation bei Verdünnung unvollständig ist.

Eine ausgesprochene Intensitätsunabhängigkeit wurde bei der Auslösung von Genmutationen und bei Strahlenreaktionen in Ruhe befindlicher biologischer Objekte (trockene Pflanzensamen, noch vor der Weiterentwicklung stehende Eier) festgestellt. Mit dem Einsetzen und dem Fortgang der Entwicklung aber steigt die Strahlenempfindlichkeit meist über wellenförmige Steigerungen stetig an, um dann nach Abschluß der Entwicklung wieder auf ein bestimmtes Maß zurückzugehen. Wichtig an diesen Änderungen der Radiosensibilität ist aber, daß damit auch konzentrierte Dosen einen weitaus größeren Effekt hervorrufen als verdünnte Dosen. Allgemein hat sich ergeben, daß die gesteigerte Wirkung bei höheren Intensitäten vom größeren Baustoffwechsel des Bestrahlungsobjektes abhängt. — Das Ergebnis der Intensitätsunabhängigkeit bei der Auslösung von Genmutationen stützt in gewissem Maße die

Tabelle 5. Abhängigkeit der Raten der *ci*-Translokationen von der Intensität der Bestrahlung.

Röntgendosis für alle Versuche: 6000 r. Es wurden normale Männchen bestrahlt und mit *ci*/*ci*-Weibchen gekreuzt.

Bestrahlungszeit	Zahl der geprüften Gameten	Zahl der *ci*-Individuen	Prozentsatz der *ci*-Translokationen
13,8 Min.	19020	113	0,594 ± 0,056
22,7 „	22396	137	0,612 ± 0,051
1 Std. 27 „	9222	83	0,900 ± 0,098
2 „ 26 „	6701	65	0,970 ± 0,120
4 „ 54 „	9731	95	0,976 ± 0,100
9 „ 45 „	5084	73	1,436 ± 0,167
21 „ 30 „	12696	149	1,174 ± 0,096
2mal 7 Std. mit Pause von 41 Std.	7487	85	1,135 ± 0,122

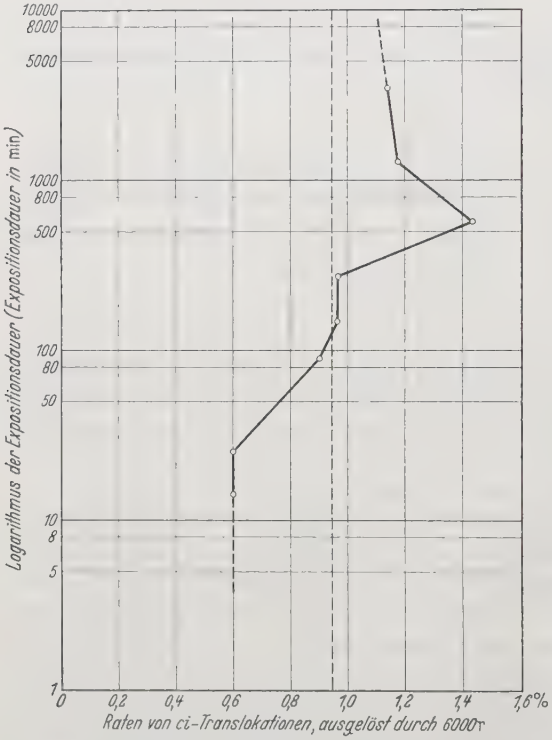


Abb. 7. Abhängigkeit der Raten der *ci*-Translokationen von dem Zeitfaktor in Röntgenbestrahlungsversuchen. In allen Versuchen wurde eine Gesamtdosis von 6000 r verabreicht; auf den Ordinaten ist die Expositionsdauer logarithmisch aufgetragen; die Abszisse stellt die Translokationsraten der einzelnen Versuche und die gestrichelte Vertikale — die mittlere Rate aus allen Versuchen dar.

sich aus der direkten Proportionalität und der Wellenlängenunabhängigkeit geschlossene Annahme, daß eine Genmutation durch *eine* Ionisation erzeugt wird.

Mit Hilfe der *ci*-Positionseffektmethode wurde nun die Wirkung verschiedener Strahlenintensitäten geprüft. Die ersten Versuchsserien wurden mit zwei verschiedenen Apparaten durchgeführt, der eine lieferte die Dosis von 6000 r innerhalb 13,8 Min., der andere dieselbe Dosis innerhalb 14 Stunden, wobei hier noch nach halber Bestrahlungszeit eine Pause von 41 Stunden dazwischen geschaltet wurde. Das Ergebnis war sehr auffallend, denn es ergab sich bei der verdünnt-fraktionierten Bestrahlung eine fast doppelte Mutationsrate im Vergleich zu der bei konzentrierter Behandlung. Dieser Befund mußte daher durch weitere Versuche einwandfrei gesichert werden. Für die nächsten Experimente wurden Grenzstrahlen benutzt und für alle Versuche derselbe Apparat verwandt. Die Intensität wurde durch Änderung

der Stromstärke und des Abstandes variiert. Die Bestimmung der Halbwertschicht bei verschiedenem Abstand ergab, daß durch die Luftfilterung die Qualität der Strahlen nicht geändert wurde. So erhielt man einwandfreie Vorbedingungen. Es wurden folgende Bestrahlungszeiten gewählt: 22,7 Min., 2 Stunden 26 Min., 4 Stunden 54 Min., 9 Stunden 45 Min. und 21 Stunden 30 Min. Die Ergebnisse sind mit den vorigen in Tabelle 5 zusammengestellt und in Abb. 7 graphisch dargestellt. Es wurde also auch bei diesen Versuchen zunächst mit Verdünnung der Strahlen eine höhere Mutationsrate erzielt. Der Wendepunkt zu einer Verminderung des Bestrahlungseffektes mit weiterer Verdünnung muß einmal auftreten, es ist jedoch ungewiß, ob tatsächlich bei einer Bestrahlungszeit von ungefähr 10 Stunden die für 6000 r höchste Mutationsrate auftritt, da gerade bei diesen Versuchen das erhaltene Material gering war. Eine Erklärungsmöglichkeit für dieses auffallende Ergebnis wird in der Diskussion erörtert werden.

Es muß noch festgestellt werden, daß die von Khvostova und Gavrilova erhaltenen Zahlen nun gut mit unseren übereinstimmen, denn diese beiden Autoren benutzten starke Strahlenkonzentration.

4. Diskussion.

Die oben beschriebenen Versuche haben folgendes ergeben: Benutzt man eine Methode der Feststellung von Translokationen, die es ermöglicht, nur einen von den mindestens zwei Brüchen besonders ins Auge zu fassen, so kann man an Hand von Dosis- und Wellenlängenversuchen gewisse Aussagen über den physikalischen Primäreffekt, der zu einem Chromosomenbruch führt, machen. Unsere Versuche haben eine direkte Dosisproportionalität und Wellenlängenunabhängigkeit im Bereich der Röntgenstrahlen ergeben; daraus kann der Schluß gezogen werden, daß eine gewisse Ähnlichkeit zwischen den Entstehungsmechanismen einer Punktmutation und eines Chromosomenbruches besteht.

Betrachtet man an Hand der Abb. 8[1] die Lage der einzelnen Punkte und die Gerade, deren Neigung aus den Zahlen aller Versuche berechnet wurde, so ist eventuell eine geringe Krümmungstendenz im Sinne einer beginnenden S-förmigen Kurve festzustellen, zumal gerade die Mutationsraten der niederen Dosen stärker unter die Gerade fallen. Diese Erscheinung kann durch zwei Überlegungen erklärt werden: 1. Es könnte angenommen werden, daß bei geringeren Dosen eine wesentliche Abweichung der Wahrscheinlichkeit des zur Verfügung stehenden zweiten Bruches von 1 eintritt (s. die in der Methodik entwickelten Vorstellungen

[1] In dieser Abbildung sind sämtliche Ergebnisse der Versuche aus dieser Arbeit und den beiden vorher zitierten Arbeiten von Khvostova und Gavrilova zusammengestellt. Die Translokationsprozentsätze der Arbeiten von Khvostova und Gavrilova wurden auf dieselbe Rate pro Dosiseinheit wie die unseren rechnerisch gebracht.

über das Zustandekommen von *ci*-Translokationen); dadurch würde der Beginn der Dosisproportionalitätskurve eine gewisse Tendenz zur S-Förmigkeit aufweisen. 2. Es könnte diese Tendenz durch eine gehemmte Rekombinationsmöglichkeit der Fragmente bedingt sein, die auf Grund der Untersuchungen von Bauer, Demerec und Kaufmann (1938) als gegeben zu betrachten ist (s. Einleitung); können sich nämlich die Chromosomenfragmente nicht vollkommen frei kombinieren, so bleibt dann

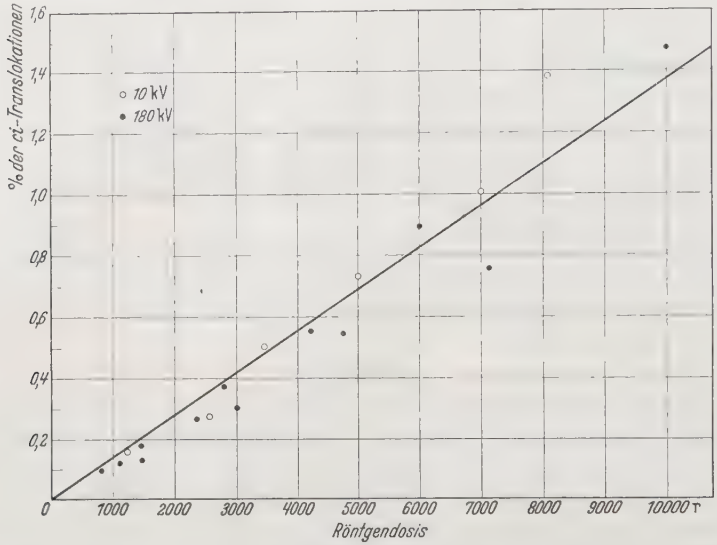


Abb. 8. Direkte Proportionalität der Raten von *ci*-Translokationen zu den Röntgenbestrahlungsdosen und Vergleich der mutationsauslösenden Wirkung von Grenzstrahlen und mittelharten Röntgenstrahlen bei *Drosophila melanogaster*. Zusammengestellt nach Versuchsergebnissen aus der vorliegenden Arbeit und nach den Resultaten von Khvostova und Gavrilova.

die Wahrscheinlichkeit des häufigen Bruches, der sich mit einem seltenerem *ci*-Bruch vereinigt, unter 1, was sich in der oben festgestellten Form der Kurve auswirken muß. Die gehemmte freie Kombinationsmöglichkeit der Fragmente muß weiterhin für die Deutung der Versuchsergebnisse herangezogen werden, die mittels der Koppelungsmethode reziproke Translokationen bei verschieden hohen Röntgendosen quantitativ erfaßt haben. Durch diese Methode werden stets zwei unabhängige Brüche gleicher Wahrscheinlichkeit erfaßt; es müßte sich daher mit zunehmender Dosis aus den einzelnen Mutationsraten eine Exponentialkurve mit dem Exponenten 2 ergeben, da ja die Häufigkeit des Sekundärereignisses durch das Produkt aus den Häufigkeiten der beiden voneinander unabhängigen Primärereignisse bestimmt wird. Aus den Versuchsergebnissen von Belgovsky (1938) und Khvostova und Gavrilova (1938) ist zu ersehen, daß der Anstieg der gefundenen Kurve

wesentlich geringer ist, als sie nach obiger theoretischer Überlegung und bei freier Rekombinationsmöglichkeit zu erwarten wäre. Ist diese aber gehemmt, so muß sich eine Exponentialkurve ergeben, deren Exponent zwischen 1 und 2 liegt.

Unsere Feststellung, daß das Zustandekommen eines Bruches eine direkte Dosisproportionalität aufweist, wird wesentlich durch die Ergebnisse unveröffentlichter Versuche von Bauer gestützt. Die in diesen Versuchen benutzte Methode kann kurz folgendermaßen dargestellt werden: Es werden *Drosophila*-Männchen bestrahlt, die ein ringförmiges X^c-Chromosom besitzen, und diese dann mit normalen Weibchen gekreuzt. Geht dieses Ringchromosom eine reziproke Translokation mit einem Autosom ein, so führt diese Aberration zu einem dizentrischen, das Absterben der Zygote bedingendem Chromosom, was bei Translokationen mit normalen X-Chromosomen nur in einem Teil der Fälle vorkommt. Bei intrachromosomaler Translokation zwischen den Spalthälften der X^c-Chromosomen entstehen Doppelringchromosomen, die entweder eliminiert werden oder zygotenletal sind. Durch diese Bildung von letal wirkenden Aberrationen wird das Geschlechtsverhältnis zugunsten der Männchen wesentlich verschoben; es läßt sich somit durch die Feststellung des Ausfalles der Weibchen eine bestimmte Gruppe von Chromosomenaberrationen quantitativ erfassen. Entsprechend durchgeführte Dosisversuche haben zu dem Ergebnis geführt, daß *ein* Treffer notwendig ist, einen Chromosomenbruch auszulösen.

Überblickt man alle Versuchsergebnisse über das Verhältnis der Mutationsrate zur Strahlendosis mit den Werten, die sich bei den Versuchen mit Strahlung anderer Wellenlänge ergaben, so kommt man zu dem unzweideutigen Schluß, daß *ein* Treffer in Form einer *Ionisation* die Auslösung eines Chromosomenbruches bewirken kann. Das Primärereignis ist somit ähnlich oder gleich dem, das eine Genutation zu erzeugen vermag. Die aufgetretenen geringen Abweichungen in den Versuchsergebnissen können auf eine gehemmte Rekombinationsmöglichkeit der Fragmente zurückgeführt werden.

Aus den Versuchen mit verschieden konzentrierter Bestrahlung ergab sich ein Zeitfaktor, der kleiner als 1 ist. Dieses Ergebnis steht zunächst in Widerspruch zu den Zeitfaktorversuchen, die Sax (1939) an Chromosomen der Mikrosporen von *Tradescantia* durchgeführt hat. Sax erhielt einen Zeitfaktor, der größer als 1 ist, und deutete das Ergebnis dahingehend, daß die Chromosomenfragmente nur eine bestimmte Verweilzeit haben, innerhalb welcher eine Verbindung mit einem anderen Fragment eingegangen werden kann, und daß dadurch mit fortschreitender Strahlenverdünnung die Verbindungsmöglichkeiten zweier Fragmente sich immer ungünstiger gestalten, da die Brüche zeitlich zu sehr auseinander liegen und daher vorher bereits eine Wiedervereinigung der ursprünglichen Fragmente erzielt werden kann. Von dieser Hypothese

ausgehend läßt sich auch unser Ergebnis deuten, wenn man eine längere Verweilzeit der Fragmente des IV. Chromosoms (unser „erster" Bruch) im Vergleich zu der des „zweiten" Bruches (also dem Mittelwert der Verweilzeit aller anderen Fragmente) annimmt. Es würden dann die im Verlauf einer kurzen Bestrahlungszeit entstehenden Fragmente der anderen Chromosomen (X, II, III) wegen ihrer zu kurzen Verweilzeit gar nicht alle Möglichkeiten voll ausnützen können, sich mit einem Fragment des IV. Chromosoms zu verbinden. Bei längerer Bestrahlungszeit aber wären Fragmente des IV. Chromosoms wegen ihrer längeren Verweilzeit sozusagen aufgestapelt, so daß diese dann mit neuentstehenden Brüchen an anderen Chromosomen Anlaß zu häufigeren Translokationen geben würden.

Neben dieser Erklärungsmöglichkeit läßt sich noch eine andere aufbauen, die außer einer bestimmten Verweilzeit der Fragmente und der Bestrahlungszeit eine „Neuordnungszeit" als bestimmenden Faktor mit heranzieht, der bei einem bestimmten Verhältnis zu den anderen zwei Zeiten bis zu einem gewissen Grad der Verdünnung einen größeren Bestrahlungseffekt hervorrufen kann. Unter „Neuordnungszeit" wird hierbei diejenige Zeit verstanden, welche notwendig ist, durch chromosomale Bewegungen neue Berührungspunkte und Kombinationsmöglichkeiten den Fragmenten zu bieten. Nimmt man z. B. eine Verweilzeit von einer Stunde, eine Neuordnungszeit von zwei Stunden an und setzt für den einen Fall eine Bestrahlungszeit von einer Stunde, für den anderen eine solche von zwei Stunden, so muß sich im zweiten Fall eine höhere Mutationsrate ergeben als im ersten. Es wird sich nämlich dann die gleiche Größe der Bestrahlungszeit und der Neuordnungszeit für das Zustandekommen von Translokationen günstig auswirken, denn andererseits liegen bei einer kürzeren Bestrahlungszeit die Chromosomenbrüche zeitlich zu sehr beieinander, so daß sich die Neuordnungszeit nicht mehr positiv auswirken kann. Mit einer weiteren Verlängerung der Bestrahlungszeit muß dann natürlich wieder ein geringerer Effekt auftreten, da durch die begrenzte Verweilzeit die Bruchstellen vorzeitig inaktiv werden, bevor sie sich mit anderen Brüchen kombinieren können.

Alle unsere Versuchsergebnisse, sowie auch diejenigen anderer Autoren über das Verhältnis der Mutationsrate zur Strahlendosis und zur Intensität der Bestrahlung sprechen für die Bruchhypothese. Namentlich der cytologische Nachweis freier Chromosomenfragmente und das Auftreten eines Zeitfaktors legen den Schluß nahe, daß als erste grobe Strukturänderung Chromosomenbrüche stattfinden und daß die dadurch entstandenen Fragmente sich erst sekundär zu Translokationen verbinden. Die Gegensätzlichkeit unseres festgestellten Zeitfaktors zu dem von Sax gefundenen kann entweder durch einen ungleichen Mittelwert der Verweilzeit verschiedener Chromosomenfragmente, oder durch ein bestimmtes, sich bis zu einem gewissen Grad der Strahlenverdünnung hin

positiv auswirkendes Verhältnis zwischen Bestrahlungszeit, Verweilzeit und Neuordnungszeit erklärt werden.

Ein Ausbau der vorliegenden Untersuchungen kann durch die Lösung folgender Fragen erzielt werden: Mit Hilfe von Neutronenstrahlung, die ebenfalls quantitativ in „r" gemessen werden kann, wären Dosisversuche durchzuführen. Das Ergebnis wäre von gewisser theoretischer Bedeutung, denn einerseits wird man bei einer Verminderung der Mutationsrate und aus der Größe des verringerten Effektes auf die relative Dimension des Treffbereiches bei Chromosomenmutationen im Vergleich zu dem bei Genmutationen schließen können; andererseits aber würde ein sich ergebender Unterschied in der Größe des Treffbereiches die Frage im verneinenden Sinne lösen, ob Gen- und Chromosomenmutationen ihrem Wesen nach dasselbe sind. Timoféeff-Ressovsky und Zimmer (1938) haben mit Neutronenstrahlen Auslösungsversuche von Genmutationen durchgeführt. Der Effekt gleicher in „r" gemessener Mengen von Neutronenstrahlen blieb beträchtlich hinter dem bei Röntgenstrahlen zurück, was auf die besondere Dichte der Ionisationen bei Neutronen und auf die Größe des Treffbereichs zurückzuführen ist.

Gewisse Hinweise liegen dafür vor, daß Chromosomenmutationen durch Ultraviolettbestrahlung im Vergleich zu Punktmutationen in relativ geringerem Maße erzeugt werden (Muller und Mackenzie, 1939). Diese Feststellung muß in quantitativer Richtung nachgeprüft werden; denn daraus könnte der Schluß gezogen werden, daß für viele oder alle Chromosomenbrüche die Aktivierungsenergie höher als bei der Entstehung einer Punktmutation sein muß. Darauf könnte auch die für *Drosophila* mit genügender Sicherheit festgestellte Tatsache beruhen, daß Chromosomenmutationen im spontanen Mutationsprozeß eine relativ geringere Rolle als in dem durch Röntgenstrahlen ausgelösten spielen.

Schließlich können weiter ausgebaute Zeitfaktorversuche für die Überprüfung der dargelegten Vorstellungen herangezogen werden. Es müßte einerseits mit noch weiterer Strahlenverdünnung gearbeitet werden, andererseits würde man zweckmäßig mit fraktionierter Bestrahlung zur endgültigen Lösung der Frage Beiträge liefern können. Zeitfaktorversuche, deren Effekt mittels der Koppelungsmethode analysiert wird, könnten die Frage lösen, ob eine längere Verweilzeit der Fragmente des IV. Chromosoms, oder eine Mitwirkung der Neuordnungszeit eine Steigerung der Mutationsrate mit Verdünnung der Strahlung bewirken kann. Dieselbe Frage könnte auch durch Anwendung anderer Positionseffektmethoden angegriffen werden, die eine quantitative Erfassung von Chromosomenbrüchen an anderen bestimmten Stellen des Genoms gestatten.

Zunächst ergibt sich somit folgende vorläufige Vorstellung über den Mechanismus von Chromosomenmutationen: Ein Primärereignis, das

mit dem zu Punktmutationen führenden vergleichbar ist, veranlaßt die Bildung einzelner Chromosomenbrüche, die sich nachher neu kombinieren können. Bei der Rekombination von durch Brüche entstandenen Chromosomenfragmenten spielt aber einerseits die beschränkte Verweilzeit der freien Bruchenden und andererseits die räumliche Anordnung der Chromosomen eine gewisse Rolle. Dadurch erklären sich einerseits die Abweichungen von den bei zwei Brüchen auf Grund zufälliger, freier Kombination zu erwartenden Dosisproportionalitätskurven und andererseits das Auftreten eines ausgesprochenen Zeitfaktoreffektes in den Bestrahlungsversuchen. Den Primärmechanismus eines Chromosomenbruches kann man vorläufig mit dem Mechanismus einer Punktmutation vergleichen unter der Annahme, daß er Bindungen in der Längsstruktur eines Chromosoms löst, wobei die benachbarten Gene unversehrt bleiben können. Vielleicht ist für die Lösung dieser Bindungen eine größere Aktivierungsenergie notwendig als für Änderungen und Umgruppierungen innerhalb der „genischen" Atomverbände. Es muß aber betont werden, daß diese Vorstellungen zunächst lediglich als Arbeitshypothese anzusehen sind.

Zusammenfassung.

1. In der vorliegenden Arbeit werden Versuche zur Auslösung von Translokationen mittels Röntgenstrahlen verschiedener Dosen, verschiedener Härte und Intensität durchgeführt.

2. Es wurde die *ci*-Positionseffektmethode angewandt, die es ermöglicht, besonders einen der beiden bei jeder Translokation beteiligten Chromosomenbrüche ins Auge zu fassen.

3. Versuche mit harten Röntgenstrahlen ergaben eine direkte Proportionalität der Rate ausgelöster *ci*-Translokationen zu den Bestrahlungsdosen, woraus geschlossen werden kann, daß ein Chromosomenbruch durch *einen* Treffer erzeugt wird.

4. Versuche mit verschiedenen Wellenlängen (harte Röntgenstrahlen und Grenzstrahlen) ergaben eine klare Wellenlängenunabhängigkeit. Es wird daraus geschlossen, daß ein Treffer eine *Ionisation* darstellt.

5. Aus Zeitfaktorversuchen (Applikation gleicher Gesamtdosen in verschiedener Expositionsdauer) wurde festgestellt, daß eine Verdünnung der Dosis bis zu einem gewissen Grade die erzeugte Translokationsrate steigert.

6. In der Diskussion werden Erklärungen für die Ergebnisse der Zeitfaktorversuche gegeben und eine vorläufige Vorstellung über den Entstehungsmechanismus von Chromosomenmutationen entwickelt.

Literaturverzeichnis.

Bauer, H.: Die Chromosomenmutationen. Z. Abstammgslehre **76** (1939). — **Bauer, H., M. Demerec and B. P. Kaufmann:** X-ray induced chromosomal alterations

in *Drosophila melanogaster*. Genetics **23** (1938). — **Bauer, H.** u. **R. Weschenfelder:** Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses in der F_1 nach Röntgenbestrahlung von *Drosophila*. Naturwiss. **26** (1938). — **Belgovsky, M.:** Dependance of translocation frequency in *Drosophila melanogaster* upon the X-ray dosage. Biol. Žurn. **6** (1937). — **Dubinin, N. P.** and **B. Sidorov:** Relation between the effect of the gene and its position in the system. Biol. Žurn. **3** (1934). — **Dubinin, N. P., N. N. Sokolov** and **G. G. Tiniakov:** A cytogenetic study of the position effect. Biol. Žurn. **4** (1935). **Khvostova, V. B.:** Detection of translocations in the proximal region of the X-chromosome of *Drosophila melanogaster* by means of the method of position effect. Biol. Žurn. **5** (1936). — **Khvostova, V. B.** and **A. Gavrilova:** A new method for discovering translocations. Biol. Žurn. **4** (1935). — Relations between the number of translocations in *Drosophila melanogaster* and the X-ray dosage. Biol. Žurn. **7** (1938). **Muller, H. J.** and **K. Mackenzie:** Discriminatory effect of ultraviolet rays on mutation in Drosophila. Nature (Lond.) **143** (1939). — **Sax, K.:** Chromosome aberrations induced by X-rays. Genetics **23** (1938). — The time-factor in X-ray production of chromosome aberrations. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **25** (1939). — **Serebrovsky, A. S.:** A general scheme for the origin of mutations. Amer. Naturalist **63** (1929). — **Stadler, L. J.:** On the genetic nature of induced mutations in plants. Proc. 6. internat. Congr. Genet. **1** (1932). — **Timoféeff-Ressovsky, N. W.:** Le Mécanisme des mutations et la structure du géne. Paris: Hermann 1939. — **Timoféeff-Ressovsky, N. W.** u. **K. G. Zimmer:** Strahlengenetische Zeitfaktorversuche an *Drosophila melanogaster*. Strahlenther. **53** (1935). — Wellenlängenunabhängigkeit der mutationsauslösenden Wirkung der Röntgen- und Gammastrahlen bei *Drosophila melanogaster*. Strahlenther. **54** (1935). — Neutronenbestrahlungsversuche zur Mutationsauslösung an *Drosophila melanogaster*. Naturwiss. **26** (1938). — Mutationsauslösung durch Röntgenbsetrahlung unter verschiedener Temperatur bei *Drosophila melanogaster*. Biol. Zbl. **59**, H. 7/8 (1939). — **Timoféeff-Ressovsky, N. W., K. G. Zimmer** u. **M. Delbrück:** Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl., Fachgr. 6, N.F. **1**, Nr 13 (1935).

Lebenslauf.

Ich wurde am 27. Juli 1913 in Ziegelleiten, Oberdonau, als Sohn eines österreichischen Beamten geboren. Ich besuchte die Volksschule in Linz, ebenso die 8 Klassen des Bundes-Realgymnasiums. Im Jahre 1935 verlegte ich meinen Aufenthalt nach dem Deutschen Reich. Ende desselben Jahres nahm ich mein Universitätsstudium in Berlin auf. Ich besuchte Vorlesungen und Übungen in Zoologie, Botanik, Chemie, Physik, Anthropologie und Geologie.

Für die Förderung dieser Arbeit, sowie wohlwollendes Interesse danke ich meinem verehrten Lehrer, Herrn N. W. Timoféeff-Ressovsky herzlich, außerdem möchte ich Herrn Dr. K. G. Zimmer für seine Unterstützung in physikalischen Fragen danken.